

(51) Int. Cl.

F I

テーマコード(参考)

C 0 7 D 231/14 (2006.01)

C 0 7 D 231/14 C S P

4 C 0 6 3

A 6 1 K 31/415 (2006.01)

A 6 1 K 31/415

4 C 0 8 6

A 6 1 K 31/496 (2006.01)

A 6 1 K 31/496

A 6 1 K 31/5377 (2006.01)

A 6 1 K 31/5377

A 6 1 K 31/4439 (2006.01)

A 6 1 K 31/4439

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全33頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-556536 (P2004-556536)  
 (86) (22) 出願日 平成15年12月4日 (2003.12.4)  
 (85) 翻訳文提出日 平成17年8月3日 (2005.8.3)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2003/005275  
 (87) 国際公開番号 WO2004/050087  
 (87) 国際公開日 平成16年6月17日 (2004.6.17)  
 (31) 優先権主張番号 0228417.2  
 (32) 優先日 平成14年12月5日 (2002.12.5)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 504236215  
 ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド  
 VERNALIS (CAMBRIDGE)  
 LIMITED  
 イギリス、ケンブリッジ シービー1 6  
 ジービー、アビントン、グランタ パーク  
 (番地なし)  
 Granta Park, Abington,  
 Cambridge CB1 6GB  
 , United Kingdom

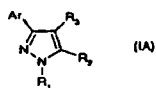
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌治療用の HSP 90 阻害剤としての 3 - (2 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸アミド誘導体

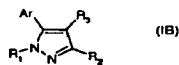
(57) 【要約】

式 (IA) もしくは (IB) :

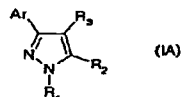
【化1】



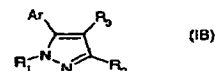
(IA)



(IB)



(IA)



(IB)

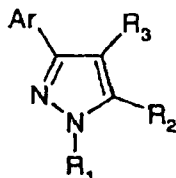
の化合物、またはそれらの塩、N-オキシド、水和物もしくは溶媒和物は、HSP90の阻害剤であり、例えば癌の治療に有用である。式 (IA)、式 (IIA) において、Ar は、環炭素を介して結合したアリールまたはヘテロアリール基であり、2位の炭素においてヒドロキシ基で置換されており、そうでなければ無置換であるかまたは任意に置換されており；R<sub>1</sub> は水素または任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり；R<sub>2</sub> は、水素、任意に置換されていてもよいシクロアルキル、シクロアルケニル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニルもしくはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル；またはカルボキシ、カルボキサミドもしくはカルボキシエステル基であり；そして、R<sub>3</sub> はカルボキサミド基である。

## 【特許請求の範囲】

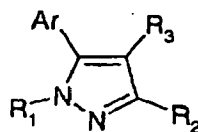
## 【請求項1】

式(IA)もしくは(IB)：

## 【化1】



(IA)



(IB)

10

(式中、

Ar は、環炭素を介して結合しているアリールまたはヘテロアリール基であり、それは2位の炭素がヒドロキシ基で置換されており、そうでなければそれは無置換であるかまたは任意に置換されている；

R<sub>1</sub> は、水素または任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり；

R<sub>2</sub> は、水素、任意に置換されていてもよいシクロアルキル、シクロアルケニル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニルもしくはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル；またはカルボキシ、カルボキサミドもしくはカルボキシエステル基であり；そして、

R<sup>3</sup>はカルボキサミド基である)

20

の化合物、またはそれらの塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物。

## 【請求項2】

Arが、任意にさらに置換されていてもよい2-ヒドロキシフェニル基である、請求項1に記載の化合物。

## 【請求項3】

Arが、一つ以上のヒドロキシ、エチル、イソプロピル、クロロ、プロモまたはフェニル基でさらに置換されている2-ヒドロキシフェニル基である、請求項1に記載の化合物。

## 【請求項4】

Arが2,4-ジヒドロキシ-5-クロロフェニル基である、請求項1に記載の化合物。

## 【請求項5】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が、独立して、水素、メチル、エチル、n-もしくはiso-プロピルまたはヒドロキシエチルである、請求項1～4のいずれか一つに記載の化合物。

30

## 【請求項6】

R<sub>1</sub>が水素であり、R<sub>2</sub>が水素またはメチルである、請求項1～4のいずれか一つに記載の化合物。

## 【請求項7】

R<sub>3</sub>が式-CONR<sup>b</sup>(Alk)<sub>n</sub>R<sup>a</sup>：

(ここで、Alkは任意に置換されていてもよい2価のアルキレン、アルケニレンまたはアルキニレン基であり、

nは0または1であり、

40

R<sup>b</sup>は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルもしくはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル基であり、

R<sup>a</sup>はヒドロキシまたは任意に置換されていてもよい炭素環式基もしくは複素環式基である)

のカルボキサミド基である、請求項1～6のいずれか一つに記載の化合物。

## 【請求項8】

Alkが-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH=CH-または-CH<sub>2</sub>CCCH<sub>2</sub>-であり、R<sup>b</sup>が水素またはメチル、エチル、n-もしくはiso-プロピルまたはアリルであり、そしてR<sup>a</sup>がヒドロキシまたは任意に置換されていてもよいフェニル、ピリジル、フリル、チエニル、N-ピペラジニルもしくはN-モルホリニルである、請求項7に記載の化合物。

## 【請求項9】

50

R<sup>a</sup>がOH、CH<sub>3</sub>O-、Cl、F、NH<sub>2</sub>CO-、NH<sub>2</sub>CO-、CH<sub>3</sub>NHCO-、-COOH、-COOCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、3,4-メチレンジオキシおよび3,4-エチレンジオキシの少なくとも1つで任意に置換されていてもよいフェニルである、請求項7または8に記載の化合物。

【請求項10】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が水素であり、Arが2,4-ジヒドロキシ-5-クロロフェニル基であり、Alkが-CH<sub>2</sub>-であり、nが0または1であり、R<sup>b</sup>が水素であり、そしてR<sup>a</sup>がOH、CH<sub>3</sub>O-、Cl、F、NH<sub>2</sub>CO-、NH<sub>2</sub>CO-、CH<sub>3</sub>NHCO-、-COOH、-COOCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、3,4-メチレンジオキシおよび3,4-エチレンジオキシの少なくとも1つで任意に置換されていてもよいフェニルである、請求項7に記載の化合物。 10

【請求項11】

R<sup>a</sup>およびR<sup>b</sup>が、それらが結合している窒素と一緒にあって、N-複素環を形成し、該複素環はO、SおよびNから選択される一つ以上のさらなる複素原子を任意に含んでもよく、そして該複素環は一つ以上の環炭素または環窒素原子が任意に置換されていてもよい、請求項7に記載の化合物。

【請求項12】

R<sup>a</sup>およびR<sup>b</sup>が、それらが結合している窒素と一緒にあって、モルホリノ、ピペリジニル、ピペラジニルまたはN-フェニルピペラジニル環を形成し、そしてそれは一つ以上の環炭素または環窒素原子において任意に置換されていてもよい、請求項11に記載の化合物。 20

【請求項13】

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-アセチル-フェニル)-アミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸フェニル-アミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-メトキシ-フェニル)-アミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-クロロ-フェニル)-アミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-アセチルアミノ-フェニル)-アミド、 30  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-スルファモイル-ベンジルアミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-メトキシ-フェニル)-アミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-クロロ-フェニル)-アミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-アセチルアミノ-フェニル)-アミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-スルファモイル-ベンジルアミド、 40  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-カルバモイル-フェニル)-アミド、  
 4-([3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボニル]-アミノ)-メチル)-安息香酸  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-メチル-ベンジルアミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-メトキシ-ベンジルアミド、  
 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-フルオロ-ベン 50

ジルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-クロロ-ベンジルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸3-メトキシベンジルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸3-トリフルオロメチル-ベンジルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-メタンスルホニル-ベンジルアミド、

からなる群の中の一つである、請求項1に記載の化合物、ならびにそれらの塩、N-オキシド、水和物および溶媒和物。 10

【請求項14】

請求項1～13のいずれか一つに記載の化合物の有効量を、哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物、特にヒトのHSP90活性の阻害に応答する疾病または病態の治療方法。

【請求項15】

ヒトまたは動物用医薬として使用するための、請求項1～13のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項16】

HSP90活性の阻害に応答する疾病または病態の治療に使用するための、請求項1～13のいずれか一つに記載の化合物。 20

【請求項17】

HSP90活性の阻害に応答する疾病または病態の処置のための医薬の製造における、請求項1～13のいずれか一つに記載の化合物の使用。

【請求項18】

疾病または病態が癌である、請求項14に記載の方法、請求項15もしくは16に記載の使用のための化合物、または請求項17に記載の使用。

【請求項19】

疾病または病態が、ウイルス病、移植拒絶、炎症性疾患、喘息、多発性硬化症、I型糖尿病、狼瘡、乾癬、炎症性腸疾患、嚢胞性線維症、血管形成関連疾病、糖尿病性網膜症、血管種または子宮内膜症である、請求項14に記載の方法、請求項15もしくは16に記載の使用のための化合物、または請求項17に記載の使用。 30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、HSP90阻害活性を有する置換ピラゾール、癌のようなHSP90活性の阻害に応答する疾病に関連した医薬での該化合物の使用、および該化合物を含む医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

40

分子シャペロンは、蛋白質の適切な折り畳みや立体構造を維持し、蛋白質の合成と分解のバランスの調節に非常に重要である。それらは、細胞増殖やアポトーシスのような多くの重要な細胞機能の調節に重要であることが示されている(JollyおよびMorimoto, 2000; Smithら, 1998; Smith, 2001)。

【0003】

#### 熱ショック蛋白質(HSPs)

細胞が、熱ショック、アルコール、重金属および酸化ストレスを含む多くの環境ストレスに曝されると、熱ショック蛋白質(HSPs)として一般に知られている多くのシャペロンが、細胞に蓄積する。HSPsの誘導は、初期ストレス傷害から細胞を保護し、再生を高め、そしてストレス耐性状態の維持に導く。しかしながら、ある種のHSPsは、正常な、ストレス 50

のない状態のもとで、重要な細胞蛋白質の増殖の一覧である、正確な折り畳み、分解、局在そして機能を調節することにより、主要な分子シャペロンの役割を果たすことも明らかとなっている。

#### 【0004】

細胞の発現、機能および局在の点で異なっている個々の遺伝子産物をもった多くのHSPs多重遺伝子族が存在する。それらは、分子量により、例えば、HSP70、HSP90およびHSP27のように分類される。

#### 【0005】

ヒトのいくつかの疾病は、蛋白質の間違った折り畳みの結果からもたらされ得る(Tytel 1ら、2001に概説; Smithら、1998)。それゆえに、分子シャペロン機構を混乱させる治療 10の発展が有益であることを立証するかもしれない。ある容態(例えば、アルツハイマー病、プリオン病およびハンチントン病)において、間違っ て折り畳まれた蛋白質が、神経変性疾患をもたらす蛋白質凝集の原因となり得る。そのうえ、間違っ て折り畳まれた蛋白質は、野生型蛋白質の機能の損失をもたら し、細胞内で分子および生理的な機能の非調節に導き得る。

#### 【0006】

HSPsは癌にも関係している。例えば、腫瘍の進行段階に関係のあるHSPsによる分化発現の証拠がある(Martinら、2000; Conroyら、1996; Kawanishiら、1999; Jameelら、1992; Hoangら、2000; Lebeauら、1991)。種々の重大な腫瘍形成経路でのHSP90の関与、そして 20抗癌活性を有するある種の天然物が、この分子シャペロンを標的にしていることの発見の結果から、HSPの機能を阻害すれば、癌治療に役立つかもしれないとの魅力的で新しい概念が、展開されてきた。最初の分子シャペロン阻害剤が、現在、臨床試験中である。

#### 【0007】

#### HSP90

HSP90は、全細胞蛋白質の約1~2%を構成しており、通常は、細胞中で、他の多くの蛋白質の一つと結合して2量体として存在している(例えば、Pratt、1997参照)。それは、細胞生存のために必須のものであり、二相のシャペロン機能を示す(Youngら、2001)。それは、種々の環境ストレス、例えば熱ショックによって本来の立体構造が変化させられた後に多くの蛋白質と相互作用すること、適切な蛋白質の折り畳みを保証すること、および 30非特異的な凝集を防ぐことによって、細胞のストレス応答において重要な役割を果たす(Smithら、1998)。さらに、最近の結果は、HSP90は、多分、突然変異蛋白質の不適切な折り畳みを修正することにより、突然変異の影響を緩和する役割も果たすことを示唆している(RutherfordおよびLindquist、1998)。

#### 【0008】

しかしながら、HSP90は、重要な調節の役割も有している。正常な生理的状态下、HSP90は、その小胞体ホモログのGRP94と一緒に、細胞内でハウスキーピングの役割も果たしており、いくつかの重要なクライアント蛋白質の安定な立体構造および成熟(maturation)を維持する。これらは、3グループ:(a)ステロイドホルモン受容体、(b)Ser/Thrまたはチロシン・キナーゼ(例えば、ERBB2、RAF-1、CDK4およびLCK)および(c)例えば変種p5 3およびテロメラーゼhTERTの触媒サブユニットのような明らかに無関連な蛋白質の集団に 40細分化できる。これら全ての蛋白質は、細胞内の多くの生理学的小および生化学的工程で、重要な調節の役割を果たしている。新規なHSP90クライアント蛋白質が、絶えず同定されている。

#### 【0009】

ヒトにおいて、多く貯蔵されているHSP90ファミリーは、4つの遺伝子、すなわち、サイトソルHSP90 $\alpha$ およびHSP90 $\beta$ 同種体(isoform)(Hickeyら、1989)、小胞体中のGRP94(Argonら、1999)およびミトコンドリア基質中のHSP75/TRAP1(Fellisら、2000)からなる。それらのファミリー全ては、同じような作用形態を有するが、細胞内での局在により、異なったクライアント蛋白質と結合すると考えられる。例えば、ERBB2は、GRP94の特異的なクライアント蛋白質であることが知られており(Argonら、1999)、そしてタイプ1腫 50

瘍壊死因子受容体 (TNFR1) およびRBは両方ともTRAP1のクライアントであることが示されている (Songら、1995; Chenら、1996)。

【 0 0 1 0 】

HSP90は、クライアント蛋白質と調節蛋白質の間での一連の複合相互作用に関与している (Smithら、2001)。正確な分子についての詳細な解明は残っているが、最近数年間に行われた生化学的およびX-線結晶学的研究は、HSP90のシャペロン機能にますます詳細な洞察を与えた。

【 0 0 1 1 】

この問題に関する以前の議論に次いで、HSP90は、ATP加水分解に必須であるヌクレオチド結合ドメインの2量体の状態にあるATP-依存性分子シャペロンであり (Prodromouら、1997)、そして今度はこれがシャペロン機能に必須である (Prodromouら、2000a) ことが、今明らかになっている。ATPとの結合は、N末端ドメイン同士を、互いにより近づけて接触しやすい状態にし、そして「かすがい機構 (clamp mechanism)」として知られている立体構造の切替えをもたらすドーナツ状の2量体構造の形成をもたらす (ProdromouおよびPearl、2000b)。

【 0 0 1 2 】

#### 公知のHSP90阻害剤

最初に発見されたHSP90阻害剤のクラスは、ベンゾキノン アンサマイシン クラスで、それは、ハービマイシンAおよびゲルダナマイシンを含んでいる。それらにより、v-Src癌遺伝子で形質転換された繊維芽細胞の悪性の遺伝表現型が逆転することが示され (Ueharaら、1985)、次いで、in vitro (Schulteら、1998) そしてin vivoの動物モデル (Supkoら、1995) の両方で、強力な抗腫瘍活性を有することが示された。

【 0 0 1 3 】

免疫沈降およびアフィニティ・マトリックスの研究により、ゲルダナマイシンの主作用機構は、HSP90との結合であることが示された (Whitesellら、1994; SchulteおよびNeckers、1998)。さらに、X-線結晶学の研究から、ゲルダナマイシンは、ATPとの結合部位で競合し、HSP90の内因性のATPアーゼ (ATPase) 活性を阻害することが示された (Prodromouら、1997; Panaretouら、1998)。そして次に、これがクライアント蛋白質をシャペロンする (chaperoning) ことのできる、成熟した多重結合のHSP90複合体の生成を妨げる。その結果、クライアント蛋白質は、ユビキチン・プロテアソーム経路を経る分解の標的にされる。17-アルキルアミノ、17-デメトキシゲルダナマイシン (17AAG) は、クライアント蛋白質を潤滑させるHSP90阻害作用ならびに培養細胞および異種移植モデルでの抗腫瘍活性は保持している (Schulteら、1998; Kellandら、1999) が、肝毒性はゲルダナマイシンよりも有意に弱い (Pageら、1997)。17AAGは、現在、フェーズI臨床試験で評価がなされている。

【 0 0 1 4 】

ラジシコールは、v-Srcおよびv-Ha-Rasにより形質転換された繊維芽細胞の悪性の遺伝表現型を逆転することが示された大環状抗生物質である (Kwonら、1992; Zhaoら、1995)。HSP90阻害により、多くのシグナル蛋白質を分解することが示された (Schulteら、1998)。X-線結晶学のデータにより、ラジシコールもまたHSP90のN末端ドメインに結合し、内因性ATPase活性を阻害することが確認された (Roeら、1998)。ラジシコールは、化合物が化学的に不安定なために、in vivoでは抗腫瘍活性が欠如している。

【 0 0 1 5 】

クマリン抗生物質は、HSP90のそれと相同性のあるATP結合部位でバクテリアのDNAジャイレースに結合することが知られている。クマリン、ノボピオシンは、HSP90のカルボキシ末端、すなわちN-末端で結合するベンゾキノン アンサマイシン類およびラジシコールが占める部位とは異なった部位で結合することが示された (Marcuら、2000b)。しかしながら、それでもHSP90機能を阻害し、HSP90でシャペロンされる多くのシグナル蛋白質の分解をもたらした (Marcuら、2000a)。

ゲルダナマイシンは、ノボピオシンに次いで、HSP90を捕縛することができない。この

ことは、NおよびC末端ドメインの間に何らかの相互作用が存在しなければならぬことを示しており、このことは、両方の部位が、HSP90シャペロンの性質にとって重要である点と矛盾がない。

【0016】

プリンを基礎とするHSP90阻害剤であるPU3は、ERBB2を含むシグナル分子の分解をもたらし、そして乳癌細胞の細胞周期停止や分化を起こさせることが示されている (Chiosisら、2001)。

【0017】

#### 治療標的としてのHSP90

分子シャペロンHSP90が、腫瘍の遺伝表現型を誘導する際に非常に重要である多くのシグナル経路を調節することに関わっていること、およびある種の生理活性天然物が、HSP90への活性を経てそれらの効果を発揮することの発見により、現在、分子シャペロンHSP90が抗癌剤開発のための新規な標的として、評価されている (Neckersら、1999)。

【0018】

ゲルダナマイシン、17AAGおよびラジシコールの最も重要な作用機作は、蛋白質のN-末端ドメインに存在しているATP結合部位でHSP90と結合することであり、そして、それがHSP90の内因性ATPase活性の阻害に導く (Prodromouら、1997; Stebbinsら、1997; Panaretouら、1998を参照)。

【0019】

HSP90 ATPase活性の阻害は、コ-シャペロン (co-chaperones) の補充を妨害し、ユビキチン・プロテアソーム経路を経る分解のためにクライアント蛋白を標的とする、HSP90ヘテロ複合体型の形成を促進する (Neckersら、1999; Kellandら、1999を参照)。

【0020】

HSP90阻害剤での処理は、癌において根本的に重要なプロセスである、細胞増殖、細胞周期調節およびアポトーシスに関与する重要な蛋白質の選択的な分解に導く。

【0021】

HSP90機能の阻害により、根本的に重要であり、そして癌においては一般に非調節な状態にあるプロセスの、細胞増殖、細胞周期調節およびアポトーシスに関与する重要なシグナル蛋白質の選択的な分解を引き起こすことが示されている (Hosteinら、2001を参照)。臨床で使用するために、これを標的とする医薬の開発のための魅力的な根拠は、形質転換された遺伝表現型と関連する蛋白質を同時に涸渇することにより、強力な抗腫瘍効果が得られ、癌細胞対正常細胞に対して治療的利点が見られることである。HSP90阻害によるこれら下流の事象が、HSP90阻害剤が培養細胞および動物モデルで抗腫瘍活性を示す原因であると信じられている (例えば、Schulzeら、1998; Kellandら、1999参照)。

【発明の開示】

【0022】

#### 発明の概要

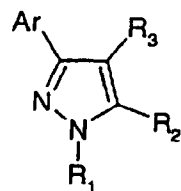
本発明は、HSP90阻害剤であって、癌細胞増殖を阻害する置換ピラゾール化合物の新規なクラスを提供するものである。一つの環炭素原子における2-ヒドロキシ芳香族置換分および隣接する環炭素原子におけるアミド置換分が、本発明の化合物の基本的な特徴である。

【0023】

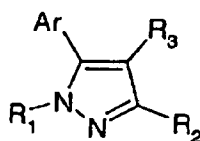
#### 発明の詳細な記述

本発明によれば、式 (IA) もしくは (IB) :

【化 1】



(IA)



(IB)

(式中、

10

Ar は、環炭素を介して結合しているアリールまたはヘテロアリール基であり、それは2位の炭素がヒドロキシで置換されており、そうでなければそれは無置換であるかまたは任意に置換されている；

R<sub>1</sub> は、水素または任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり；

R<sub>2</sub> は、水素、任意に置換されていてもよいシクロアルキル、シクロアルケニル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニルもしくはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル；またはカルボキシ、カルボキサミドもしくはカルボキシエステル基であり；そして、

R<sup>3</sup>はカルボキサミド基である)

の化合物、またはそれらの塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物が提供される。

【0024】

20

化合物IAおよびIBにおいてR<sub>1</sub>が水素のとき、化合物IAおよびIBは、同じ化合物の互変異性型である。

【0025】

ここで用いられる、

「カルボキシ基」の語は、式-COOHの基であり、

「カルボキシエステル基」の語は、式-COORの基であり、ここでRはヒドロキシ化合物ROHから実際にまたは概念的に誘導される基であり、そして

「カルボキサミド基」の語は、式-CONR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>の基であり、ここで-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>は、アンモニアまたはアミンHNR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>から実際にまたは概念的に誘導される一級または二級（環状を含む）アミノ基である。

30

【0026】

ここで用いられる「(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)アルキル」の語は、1～6の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基を意味し、例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、t-ブチル、n-ペンチルおよびn-ヘキシルを含む。

【0027】

ここで用いられる「(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)アルケニル」の語は、2～6の炭素原子を有し、EまたはZの立体配置の二重結合を少なくとも一つ含む、直鎖または分枝鎖アルケニル基を意味し、例えばエテニルおよびアリルを含む。

【0028】

ここで用いられる「(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)アルキニル」の語は、2～6の炭素原子を有し、少なくとも一つのも一つの三重結合を含む直鎖または分枝鎖アルキニル基を意味し、例えばエチニルおよびプロパ-2-イニルを含む。

40

【0029】

ここで用いられる「シクロアルキル」の語は、3～8の炭素原子を有する飽和炭素環式基を意味し、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルを含む。

【0030】

ここで用いられる「シクロアルケニル」の語は、少なくとも一つの日二重結合を含む3～8の炭素原子を有する炭素環式基を意味し、例えばシクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニルおよびシクロオクテニルを含む。

50



## 【0031】

ここで用いられる「アリアル」の語は、1、2または3環の炭素環式芳香族基を意味する。そのような基の例は、フェニル、ビフェニルおよびナフチルである。

## 【0032】

ここで用いられる「炭素環式」の語は、環原子が全て炭素である環式基を意味し、単環式アリアル、シクロアルキルおよびシクロアルケニル基を含む。

## 【0033】

ここで用いられる「ヘテロアリアル」の語は、S、NおよびOから選択される一つ以上の複素原子を含む1、2または3環式芳香族基を意味する。そのような基の例は、チエニル、ベンゾチエニル、フリル、ベンゾフリル、ピロリル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、チアゾリル、ベンゾチアゾリル、イソチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、ベンズオキサゾリル、イソキサゾリル、ベンズイソキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、ベンゾトリアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、インドリルおよびインダゾリルである。

## 【0034】

ここで用いられる無条件の用語「複素環式」または「複素環系」は、上で定義された「ヘテロアリアル」を含み、特に、S、NおよびOから選択される一つ以上の複素原子を含む1、2または3環式の非芳香族基を意味し、他の基または単環の炭素環式基と共有結合している一つ以上の複素原子を含む単環の非芳香族基からなる群である。そのような基の例は、ピロリル、フラニル、チエニル、ピペリジニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、チアジアゾリル、ピラゾリル、ピリジニル、ピロリジニル、ピリミジニル、モルホリニル、ピペラジニル、インドリル、モルホリニル、ベンゾフラニル、ピラニル、イソキサゾリル、ベンズイミダゾリル、メチレンジオキシフェニル、エチレンジオキシフェニル、マレイミドおよびスクシンイミド基である。

## 【0035】

用語が使用されている文脈中で、別の方法で特定されていなければ、ここのいかなる部分に対しても用いられている「置換された」の語は、4つまでの置換基で置換されていることを意味し、その各々は独立して、例えば、 $(C_1-C_6)$ アルキル、 $(C_1-C_6)$ アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ $(C_1-C_6)$ アルキル、メルカプト、メルカプト $(C_1-C_6)$ アルキル、 $(C_1-C_6)$ アルキルチオ、ハロ(フッ素および塩素を含む)、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ニトロ、ニトリル $(-CN)$ 、オキソ、フェニル、 $-COOH$ 、 $-COOR^A$ 、 $-COR^A$ 、 $-SO_2R^A$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-CONHR^A$ 、 $-SO_2NHR^A$ 、 $-CONR^AR^B$ 、 $-SO_2NR^AR^B$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^A$ 、 $-NR^AR^B$ 、 $-OCONH_2$ 、 $-OCONHR^A$ 、 $-OCONR^AR^B$ 、 $-NHCOR^A$ 、 $-NHCOOR^A$ 、 $-NR^BCOOR^A$ 、 $-NHSO_2OR^A$ 、 $-NR^BSO_2OR^A$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-NR^ACONH_2$ 、 $-NHCONHR^B$ 、 $-NR^ACONHR^B$ 、 $-NHCONR^AR^B$ または $-NR^ACONR^AR^B$ (ここで、 $R^A$ および $R^B$ は独立して $(C_1-C_6)$ アルキル基である)である。

## 【0036】

ここで用いられる「塩」の語は、塩基付加塩、酸付加塩および4級塩を含む。酸性である本発明の化合物は、例えばナトリウムおよびカリウム水酸化物のようなアルカリ金属水酸化物；例えばカルシウム、バリウムおよびマグネシウム水酸化物のようなアルカリ土類金属水酸化物のような塩基と、また例えばN-エチルピペリジン、ジベンジルアミンなどの有機塩基と、医薬的または動物薬的に許容される塩を含む塩を形成することができる。

## 【0037】

塩基性である化合物(I)は、例えば塩酸もしくは臭化水素酸のようなハロゲン化水素酸、硫酸、硝酸またはリン酸などの無機酸、ならびに例えば酢酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、サリチル酸、クエン酸、メタンスルホン酸およびp-トルエンスルホン酸などの有機酸と、医薬的または動物薬的に許容される塩を含む塩を形成することができる。

## 【0038】

本発明のいくつかの化合物は、不斉炭素原子の存在により、一つ以上の顕在的または潜

在的なキラル中心を有する。いくつかの不斉炭素原子の存在は、各々のキラル中心でのRまたはS立体化学により、多くのジアステレオマーを生じる。本発明は、そのようなジアステレオマーおよびそれらの混合物の全てを含む。

#### 【 0 0 3 9 】

本発明の化合物において：

Arの例としては、例えば一つ以上のヒドロキシ、エチル、イソプロピル、塩素、臭素またはフェニル基でさらに置換されていてもよい2-ヒドロキシフェニル基が挙げられる。特に、Arは2,4-ジヒドロキシ-5-クロロフェニル基が挙げられる。

#### 【 0 0 4 0 】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>の例としては、水素、メチル、エチル、n-もしくはiso-プロピル、またはヒドロキシエチルが挙げられる。ここでは、R<sub>1</sub>は水素が好ましく、R<sub>2</sub>は水素またはメチルが好ましい。

#### 【 0 0 4 1 】

R<sub>3</sub>の例としては、式-CONR<sup>n</sup>(Alk)<sub>n</sub>、R<sup>n</sup>のカルボキサミド基：

(ここで、Alkは2価のアルキレン、アルケニレンまたはアルキニレン基、例えば-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH=CH-または-CH<sub>2</sub>CCCH<sub>2</sub>-基であり、そのAlk基は任意に置換

されている、

nは0または1であり、

R<sup>n</sup>は、水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルもしくはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル基、例えばメチル、エチル、n-

20

もしくはiso-プロピルまたはアリルであり、

R<sup>n</sup>は、ヒドロキシまたは任意に置換されていてもよい炭素環式基、例えば任意に置換されていてもよいフェニル；または複素環式基、例えばピリジル、フリル、チエニル、N-ピペラジニルまたはN-モルホリニルであり、それらの複素環は、OH、CH<sub>3</sub>O-, Cl、F、NH<sub>2</sub>CO-, NH<sub>2</sub>CO-, CH<sub>3</sub>NHCO-, -COOH、-COOCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、3,4-メチレンジオキシおよび3,4-エチレンジオキシを含む前記のなかの任意の置換基で置換されていてもよい、または

R<sup>n</sup>およびR<sup>n</sup>は、それらが結合している窒素と一緒に、N-複素環を形成し、該複素環はO、SおよびNから選択される一つ以上のさらなる複素原子を任意に含んでもよく、そして該複素環は一つ以上の環炭素または環窒素原子において任意に置換されていてもよく、そのようなN-複素環の例としては、モルホリノ、ピペリジニル、ピペラジニルおよびN-フェニルピペラジニルが挙げられる。

30

#### 【 0 0 4 2 】

本発明の特定のサブクラスの化合物において、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は水素であり、Arは2,4-ジヒドロキシ-5-クロロフェニル基であり、Alkは-CH<sub>2</sub>-であり、nは0または1であり、R<sup>n</sup>は水素であり、そしてR<sup>n</sup>はOH、CH<sub>3</sub>O-, Cl、F、NH<sub>2</sub>CO-, -COOH、-CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>3</sub>、-CF<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>および3,4-メチレンジオキシの少なくとも一つで任意に置換されていてもよいフェニルであり得る。

#### 【 0 0 4 3 】

本発明の特定の化合物は、以下の実施例の化合物、特に次の化合物およびその塩を含む：

40

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-アセチル-フェニル)-アミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸フェニルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-メトキシ-フェニル)-アミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-クロロ-フェニル)-アミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-アセチルアミノ-フェニル)-アミド、

50

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-スルファモイル-ベンジルアミド、

【 0 0 4 4 】

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-メトキシ-フェニル)-アミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-クロロ-フェニル)-アミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-アセチルアミノ-フェニル)-アミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-スルファモイル-ベンジルアミド、 10

【 0 0 4 5 】

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(4-カルバモイル-フェニル)-アミド、

4-([3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボニル]-アミノ)-メチル)-安息香酸

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-メチル-ベンジルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-メトキシ-ベンジルアミド、 20

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-フルオロ-ベンジルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-クロロ-ベンジルアミド、

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸3-メトキシベンジルアミド、

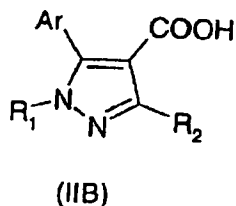
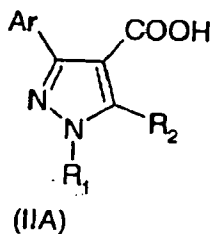
3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸3-トリフルオロメチル-ベンジルアミド、 および

3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸4-メタンスルホニル-ベンジルアミド。 30

【 0 0 4 6 】

本発明の化合物は、式(IIA)または式(IIB)：

【化 2】



のカルボン酸のアミド化により製造される。

そのようなアミド化の典型的な反応スキームおよび条件は、以下の実施例中に示されている。

【 0 0 4 7 】

本発明の化合物はHSP90の阻害剤であり、したがって、HSP90活性の阻害に応答する疾病、例えば癌；C型肝炎(HCV)のようなウイルス病(Waxman, 2002)；移植におけるような免疫抑制(Bijlmakers, 2000およびYorgin, 2000)；慢性関節リウマチ、喘息、多発性硬化症(MS)、I型糖尿病、狼瘡、乾癬および炎症性腸疾患のような抗炎症性疾患(Bucci, 2000)；嚢胞性線維症(Fuller, 2000)；血管形成関連疾患(Hur, 2002およびKurebayashi, 50

2001) ; 糖尿病性網膜症、血管腫、乾癬、子宮内膜症および腫瘍血管形成の治療に有用である。

【 0 0 4 8 】

したがって、本発明は：

- (i) 上記の式 (IA) もしくは (IB) の化合物の有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物、特にヒトの HSP90 活性の阻害に応答する疾病または病態の治療方法；および
- (ii) ヒトまたは動物用医薬、特に HSP90 活性の阻害に応答する疾病または病態の治療に使用するための、上記の式 (IA) もしくは (IB) の化合物；および
- (iii) HSP90 活性の阻害に応答する疾病または病態の処置（治療または予防を意味する）のための医薬の製造における、上記の式 (IA) もしくは (IB) の化合物の使用

10

【 0 0 4 9 】

特定の患者に対する特定の投与量レベルは、用いられる特定化合物の活性、年齢、体重、身体全体の健康、性別、食事、投与時間、投与経路、排泄速度、薬の組合せ、治療を受ける特定の疾病の原因機序および重篤度を含む種々の要因に依存することが理解されるであろう。

一般的に、経口投与製剤の適切な投与量は、通常、1日当り1回、2回または3回で、0.1~3000mgの範囲であるか、または点滴もしくは他の経路により投与される1日量に等しい量であろう。しかしながら、最適な投与量レベルおよび投与回数は、当分野で慣例の臨床試験によって決定されるであろう。

20

【 0 0 5 0 】

本発明に関する化合物は、それらの薬物動態の性質と合致した経路による投与を目的として製造される。経口投与可能な組成は、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、トローチ剤、経口用、局所用または無菌非経口用溶液もしくは懸濁液のような液もしくはゲル製剤の形態である。

【 0 0 5 1 】

経口投与のための錠剤およびカプセル剤は、単位投与量を含む形態であり、それは慣用の賦形剤：例えばシロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビトール、トラガカントガムまたはポリビニルピロリドンのような結合剤；例えばラクトース、砂糖、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウム、ソルビトールまたはグリシンのような充填剤；例えばステアリン酸マグネシウム、滑石、ポリエチレングリコールまたはシリカのような錠剤用滑沢剤；例えばバレイショデンプンのような崩壊剤、またはナトリウムラウリルスルフェートのような許容される湿潤剤を含んでもよい。錠剤は、普通の製薬の実務で周知の方法により、コーティングされてもよい。

30

【 0 0 5 2 】

経口液剤は、例えば水性もしくは油性の懸濁液、溶液、乳液、シロップまたはエリキシルの形態であるか、または使用前に水もしくは他の適当な媒体で溶解する乾燥生成物の形態であってもよい。上記の液剤は、慣用の添加剤：例えばソルビトール、シロップ、メチルセルロース、グルコースシロップ、ゼラチン、水素化された食用油脂のような懸濁剤；例えばレシチン、ソルビタンモノオレエートまたはアラビアゴムのような乳化剤；例えばアーモンド油、ヤシ油、グリセリドのような油状エステル、ポリプロピレングリコールまたはエチルアルコールのような非水性媒体（食用油を含む）；例えばメチルもしくはプロピル p-ヒドロキシベンゾエートまたはソルビン酸のような保存剤、ならびに所望により慣用の芳香剤または着色剤を含んでもよい。

40

【 0 0 5 3 】

皮膚への局所適用のために、医薬はクリーム、ローションまたは軟膏にされ得る。そのような医薬のために使用されるクリームもしくは軟膏の製剤化は、例えば英国薬局方のような製剤学の標準的な教科書に記載されているような、当分野で周知慣用の製剤化である。

【 0 0 5 4 】

50

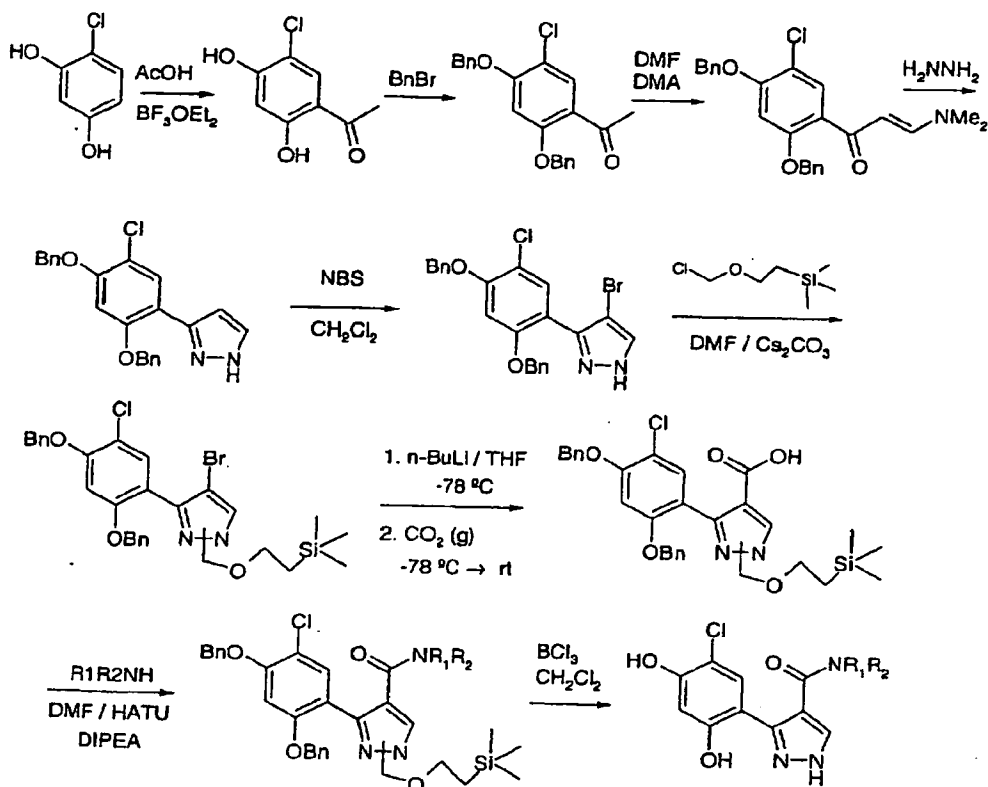
活性成分は、無菌媒体中、非経口的にも投与され得る。用いられる媒体および濃度により、医薬は媒体に懸濁させるか、または溶解させることができる。局所麻酔剤のような補助剤、保存剤および緩衝剤も媒体に溶解することができる。

【 0 0 5 5 】

以下の実施例は、本発明の特定の化合物の製造法および活性を示している。

スキーム 1 :

【化 3】



10

20

30

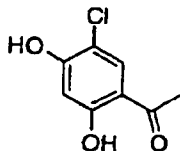
【実施例】

【 0 0 5 6 】

実施例 1

工程 1 : 1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-エタノン

【化 4】



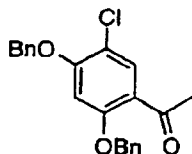
40

酢酸 (17.5mL) を、ポロントリフルオライドエーテラート (200mL) 中の 4-クロロレゾルシンオール (42.5g, 0.293mmol) の懸濁液に、窒素雰囲気下に滴下した。反応混合物を 90℃ で 3.5 時間加熱し、次いで室温まで冷却した。冷却から約 1 時間後に、固体が生成した。混合物を 10%w/v 酢酸ナトリウム水溶液 (700mL) 中に注入した。この混合物を 2.5 時間激しく攪拌した。明るい褐色の固体が生成し、それをろ過し、水で洗浄し、一晚風乾して、1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-エタノン (31.6g, 58%) を得た。LCMS: [M-H]<sup>+</sup> 185

【 0 0 5 7 】

工程 2 : 1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-エタノン

## 【化 5】

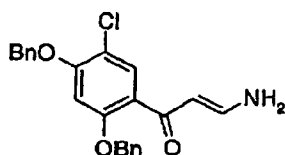


ベンジルブロマイド (30mL) を、アセトニトリル (350mL) 中の 1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-エタノン (20g、0.107mol) および炭酸カリウム (37g、2.5当量) の混合物に加えた。混合物を還流下に 6 時間加熱し、次いで冷却し、一晚攪拌した。混合物をろ過し、固体をジクロロメタン (3×100mL) で洗浄した。有機抽出液を合わせ、真空下に蒸発させ、淡黄色の固体を得、それをヘキサン (350mL) / 酢酸エチル (15mL) の混液で粉碎し、ろ過して、オフホワイトの 1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-エタノン (35.4g、90%) を得た。1H NMR (400MHz) は、この構造と一致した。

【 0 0 5 8 】

工程 3 : 3-アミノ-1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-プロペノン

【化 6】



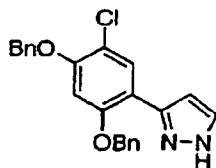
ジメチルホルムアミドジメチルアセタール (13.5mL、1.1当量) および 1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-エタノン (34g、0.09mol) の溶液を 150℃ で 2 時間還流加熱した。さらにジメチルホルムアミドジメチルアセタール (10mL) を加え、3 時間加熱を続けた。混合物を放冷し、ジメチルホルムアミドを蒸発させて橙赤色の固体を得た。これをろ過し、風乾して、3-アミノ-1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-プロペノン (33g、84%) を得た。

LCMS : 一成分 ; [M+H]<sup>+</sup> 422、424

【 0 0 5 9 】

工程 4 : 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール

【化 7】



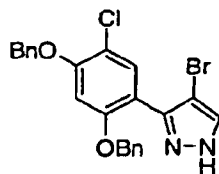
ヒドラジン水和物 (4.76g、1.1当量) を、エタノール (300mL) 中の 3-アミノ-1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-プロペノン (30.88g、0.07mol) の懸濁液に加えた。反応混合物を 4.5 時間還流加熱し、次いでヒドラジン (200mL) をさらに加え、45 分間加熱を続けた。混合物を室温まで放冷し、一晚攪拌した。オフホワイトの固体をろ取り、冷エタノールで洗浄して、3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール (24g) を得た。ろ液を蒸発させ、残渣をエタノールで粉碎し、ろ過して、3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール (2.57g) をさらに得た。全収率 92%。

1H NMR (400MHz) は構造と一致する。

【 0 0 6 0 】

工程 5 : 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-4-ブromo-1H-ピラゾール

## 【化 8】



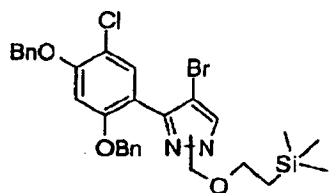
N-ブロモスクシンイミド (4.70g、26mmol) を、ジクロロメタン (200ml) 中の 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール (10.29g、26mmol) の攪拌溶液に少しずつ5分間で加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌し、次いで水 (200ml) を加え、10分間 10  
 激しく攪拌を続けた。相分離を行い、有機相を水 (3×100ml)、塩化ナトリウム飽和水溶液 (2×100ml) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。混合物をろ過し、ろ液の溶媒を真空下に除去して、オフホワイトの固体を得た。これを酢酸エチル/ヘキサン (1:20) 混液で粉碎して、3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-4-ブromo-1H-ピラゾール (11.80g、97%) をオフホワイトの固体として得た。

LC保持時間 2.80分間 [M+H]<sup>+</sup> 471、469 (実行時間 3.75分間)

【 0 0 6 1 】

工程 6 : 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-4-ブromo-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール / 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-4-ブromo-2-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール 20

【化 9】



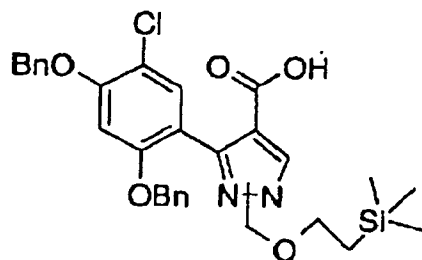
炭酸セシウム (16.3g、50mmol) を、DMF (70ml) 中の 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-4-ブromo-1H-ピラゾール (11.80g、25mmol) の溶液に加えた。(2-トリメチルシリル)エトキシメチルクロライド (4.93ml、32mmol) を約 500μL ずつ4時間で加え、混合物 30  
 を室温で16時間攪拌した。大部分のDMFを真空下に除去し、残留混合物を酢酸エチル (400ml) と水 (400ml) の間で分配する。相分離を行い、有機相を水 (2×250ml)、塩化ナトリウム飽和水溶液 (2×250ml) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。混合物をろ過し、ろ液の溶媒を真空下に除去して、黄色の油状物を得た。これをヘキサン中の5%酢酸エチルで溶出するシリカゲル (100g) のフラッシュクロマトグラフで精製した。これにより、3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-4-ブromo-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール (15.0g、99%) を淡黄色の油状物として得た。<sup>1</sup>H NMR分析は、生成物がレジオアイソマーの混合物であることを示す。

LC保持時間 3.35分間 [M+H]<sup>+</sup> 601、599 (実行時間 3.75分間)

【 0 0 6 2 】

工程 7 : 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸 / 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸 40

【化 1 0】



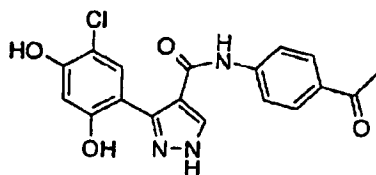
窒素雰囲気下、*n*-ブチルリチウム溶液 (1.6M、7.8ml、12.4mmol) を、無水 THF (60ml) 中の 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-4-プロモ-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール (5.98g、9.97mmol) の溶液に -78℃ で 10 分間で滴下した。生じた橙色の溶液を -78℃ で 15 分間攪拌し、次いで過剰の二酸化炭素ガスを反応混合物中に 2 分間吹き込んだ (溶液がすぐに脱色した)。冷却浴を取り去り、反応混合物を室温まで暖め、塩化アンモニウム飽和水溶液 (100ml) を加えて、クエンチした。反応混合物を酢酸エチル (2×150ml) で抽出し、有機相を合わせて、水 (1×150ml)、塩化ナトリウム飽和水溶液 (2×250ml) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。混合物をろ過し、ろ液の溶媒を真空下に除去して、淡黄色の固体を得た。これを酢酸エチル-ヘキサンから再結晶して、生成物 (2.2g) を無色の固体として、またレジオアイソマー混合物として得た。結晶化の母液を真空下に蒸発させ、残留する油状物をヘキサン中 10~50% 酢酸エチルで溶出するシリカゲル (50g) のフラッシュクロマトグラフで精製して、生成物 (0.136g) をレジオアイソマー混合物として得た。全収量 2.516g、(45%)

LC 保持時間 3.15 分間 [M+H]<sup>+</sup> 565 (実行時間 3.75 分間)

【0063】

工程 8 : 3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸 (4-アセチル-フェニル)-アミド

【化 1 1】



30

O-(7-アザベンゾトリアゾール-イル)N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (100mg、0.27mmol) を、3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸および 3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-(2-トリメチルシラニル-エトキシメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸の混合物 (150mg、0.27mmol) に加えた。N,N-ジメチルホルムアミド (2.5ml) を加え、次いで 4-アミノアセトフェノン (43mg、0.32mmol) およびジイソプロピルエチルアミン (0.14ml、0.81mmol) を加えた。反応混合物をマイクロウェーブを使って 100℃ で 5 分間加熱し、室温で 2 時間放置した。溶媒を真空下に除去し、残渣をジクロロメタン (8ml) と塩化ナトリウム水溶液 (5ml) との間で分配した。混合物を 10 分間激しく攪拌し、相分離を行った。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、ろ液の溶媒を真空下に除去して、褐色の油状物を得た。粗アミド生成物をジクロロメタン (2ml) に再溶解し、窒素雰囲気下に放置した。ポロントリクロライド (ジクロロメタン中 1.0M 溶液、1.35ml、1.35mmol) を滴下し、褐色の沈殿物が生じる。反応混合物を一晩攪拌し、次いで重炭酸ナトリウム飽和水溶液 (4ml) を注意して加え、クエンチした。反応混合物を酢酸エチルで抽出し、相分離を行った。有機相を塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、ろ液の溶媒を真空下に除去して、褐色の固体を得た。これを分取 HPLC で精製して、3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸 (4-アセチル-フェニル

50



)-アミド(3mg)をオフホワイトの固体として得た。

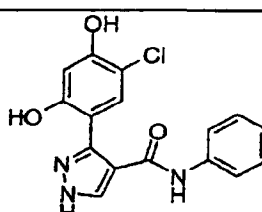
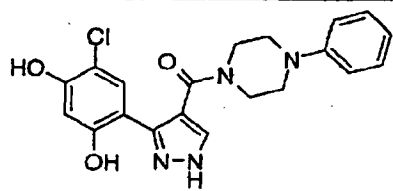
LC保持時間1.97分間[M+H]<sup>+</sup> 372 (実行時間3.75分間)

実施例1の化合物は、以下の生物学的結果のセクションに記載のマラカイトグリーンの試験で、「A」の範囲の活性を有していた。

【 0 0 6 4 】

本発明のさらなる以下の実施例の化合物は、実施例1の化合物の製造と同様の方法で製造した。次の表中で、「HSP90 IC50」が先頭に付いたカラムは、以下の生物学的結果のセクションに記載のマラカイトグリーンの試験を行ったときの、その化合物の活性の範囲を表す。

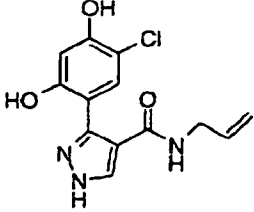
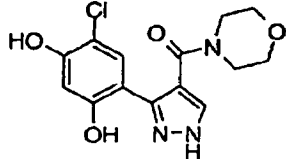
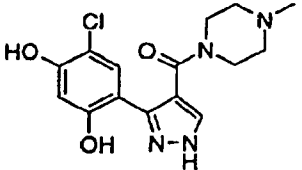
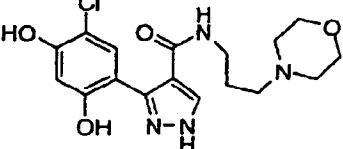
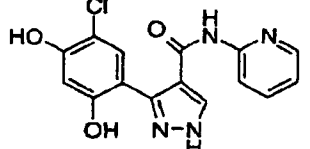
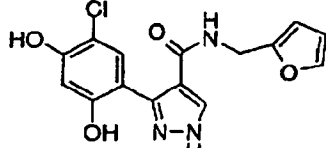
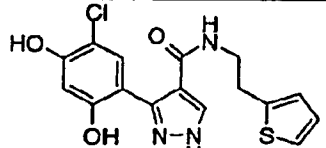
【表1-1】

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
2		330	B
3		400	B

10

20

【表 1 - 2】

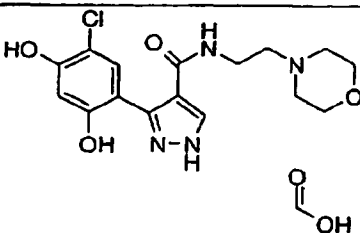
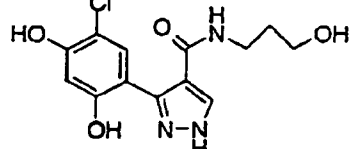
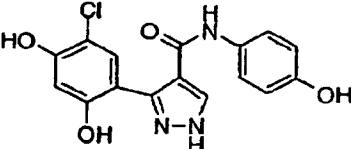
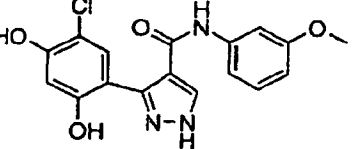
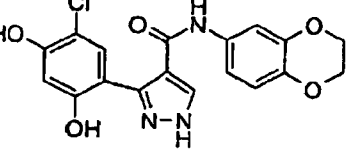
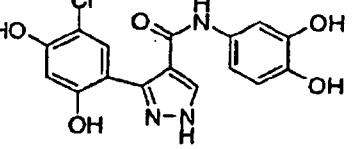
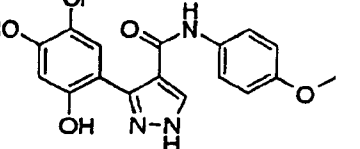
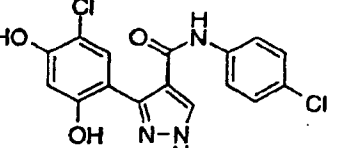
実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
4		294	B
5		324	B
6		337	B
7		381	B
8		332	B
9		335	A
10		364	A

10

20

30

【表 1 - 3】

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
11		414	B
12		313	B
13		347	A
14		361	A
15		389	A
16		363	B
17		361	A
18		365	B

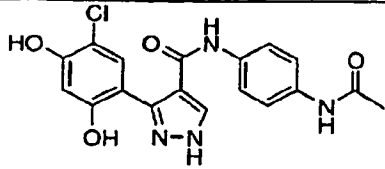
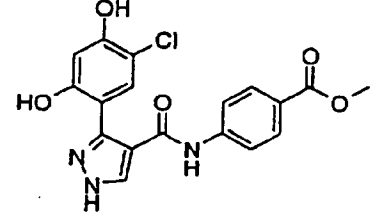
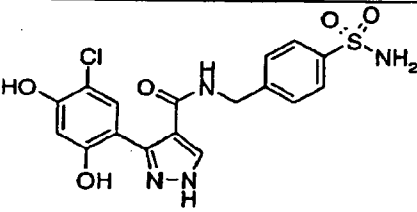
10

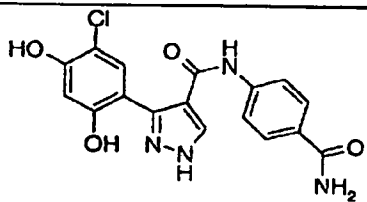
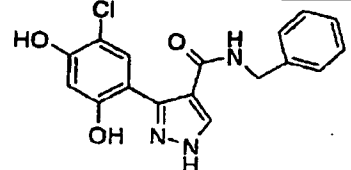
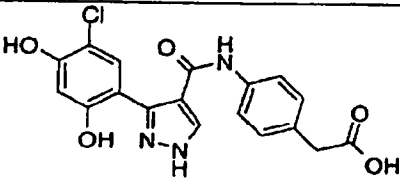
20

30

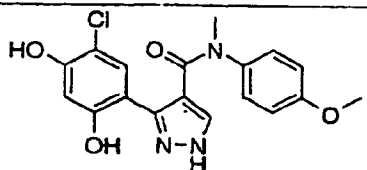
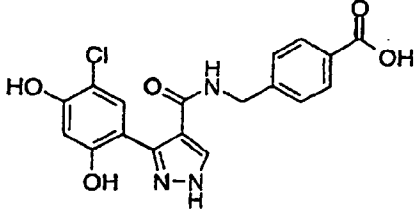
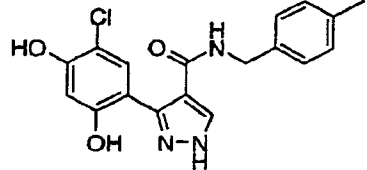
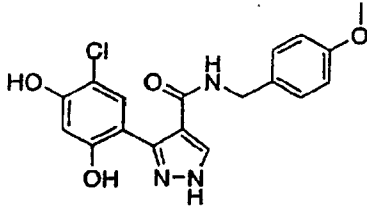
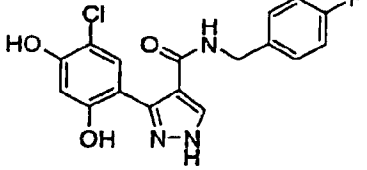
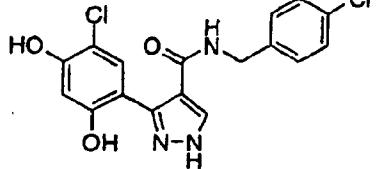
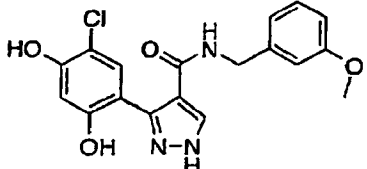
40

【表 1 - 4】

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
19		388	B
20		389	A
21		424	A

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
22		373	A
23		344	B
24		388	B

【表 1 - 5】

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
25		374	B
26		388	A
27		358	A
28		374	A
29		362	A
30		378	A
31		374	A

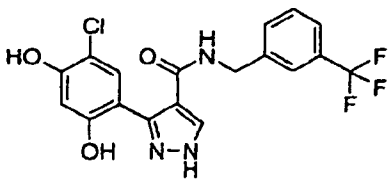
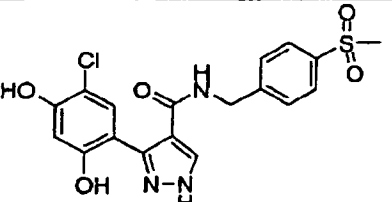
10

20

30

40

【表 1 - 6】

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
32		412	A
33		422	A

10

## 【 0 0 6 5 】

## 生物学的結果

Hsp90の内在性のATPase活性は、モデル系として酵母のHSP90を用いて測定され得る。無機ホスフェートの測定に対してマラカイトグリーンを用いる方法を基にした評価方法によ  
20

## 【 0 0 6 6 】

## マラカイトグリーンATPase分析

## 材料

化学薬品は市販品で最高純度のものであり、全ての水溶液はAR水を用いて調製される。無機ホスフェートの混入を最小限にする必要性から、分析に使用される溶液および装置に注意を払うべきである。ガラス製品およびpHメータは、2度蒸留された水または脱イオンされた水で使用前に洗浄され、可能な限りどんな場合でも、プラスチック製品を使用すべきである。全ての操作に対して手袋を着用した。

(1) グライナー 384-ウェル (Greiner 781101) または コスター 384-ウェル 平底ポリスチレン  
マルチウェルプレート (VWR) 30

(2) (a) 100mM Tris-HCl, pH7.4 (b) 150mM KCl (c) 6mM MgCl<sub>2</sub> の分析緩衝液、室温で貯蔵

(3) 0.0812% (w/v) マラカイトグリーン (M 9636、シグマアルドリッチ社、Poole、UK)、  
室温で貯蔵

(4) 沸騰水中 2.32% (w/v) ポリビニルアルコール USP (P 1097、シグマアルドリッチ社、Poole、UK) (コメント 1 参照)、冷却して室温で貯蔵

(5) 6M 塩酸中 5.72% (w/v) モリブデン酸アンモニウム、室温で貯蔵

(6) 34% (w/v) クエン酸ナトリウム、室温で貯蔵

(7) 100mM ATP 2 ナトリウム塩、特別品質 (47699、シグマアルドリッチ)、-20℃で貯蔵

(8) E. coli により発現された酵母 HSP90 蛋白質、95% 以上に精製し (例えば、Panaretou、  
ら、1998 参照)、50 μL に分割して -80℃ で貯蔵 40

## 【 0 0 6 7 】

## 方法

1. 試験化合物を AR 水中 500 μM に希釈 (DMSO 濃度は 2.5% である)。これらの化合物の 2.5 μl を直接、娘プレートから分析プレートへ移し、最終分析濃度を 100 μM にする。12 ポイントの IC50 値を得るために、1:2 の連続希釈を行い 100 μM から 97.6 nM の範囲の分析濃度 (2.5% DMSO) を作成し、各濃度の 2.5 μl を分析プレートへ移した。分析プレートの列 1 は、ネガティブコントロールとして化合物を含まないものとする。化合物を含まないさらなる行を、バックグラウンドとしても使用する。

2. ATP の 100mM 貯蔵液を分析緩衝液で 925 μM に希釈して調製し、対照を含んだ各ウェル 50

に、希釈されたATPの5 $\mu$ lずつを分割する（最終分析濃度370 $\mu$ M）。

3. 緩衝液の5 $\mu$ lをバックグラウンドの行に加える。

4. 分析緩衝液で酵素試料を1.05 $\mu$ Mに希釈し、5 $\mu$ lずつ各化合物ウェルおよびネガティブコントロールの列に分割する。

5. ウェルの底に試薬を集め、プレートシールでプレートを覆い、37℃で一晩インキュベートする。

6. 朝一番にマラカイトグリーン試薬を調製する。マラカイトグリーン溶液の2部、ポリビニルアルコール溶液の1部、モリブデン酸アンモニウム溶液の1部そしてAR水の2部を加える。

7. 逆さまにして混合し、色が褐色から山吹色に変わるまで、約1時間放置する。

8. マラカイトグリーン試薬の40 $\mu$ lを各ウェルに加え、色が生じるように5分間放置する。

9. クエン酸ナトリウム試薬の5 $\mu$ lを各ウェルに加える（コメント2参照）。

10. プレートシールで再度覆い、プレート振盪器で少なくとも15分間振盪する。

11. 適当なプレートリーダー（例えば、Victor、Perkin Elmer Life Sciences、Milton Keynes、UK）を使って620nmでの吸光度を測定する。これらの条件で、対照の吸光度は0.9～1.4であり、バックグラウンドは0.2～0.35であり、そして、信号対雑音比～12を与える。これらの条件を用いて得られたデータから計算されたZ'因子は、0.6～0.9の間である。

【0068】

20

コメント

(1)ポリビニルアルコールは沸騰水に溶解し難く、2～3時間の攪拌を必要とする。

(2)マラカイトグリーン試薬とクエン酸ナトリウムの添加時間の間隔は、ATPの非酵素的加水分解を少なくするため、できるだけ短く保つべきである。一度クエン酸ナトリウムが加えられれば、色は室温で4時間まで安定である。

(3)化合物は、Biomex FXロボット(Beckman Coulter)を用いて分析プレートに加えることができる。マルチドロップ384ディスペンサー(Thermo Labsystems、Basingstoke、UK)が、プレートへ試薬を加えるために都合よく使用できる。

(4)分析条件の時間、蛋白質および基質濃度は、信号対雑音格差を保持しながら、最小限の蛋白質濃度を達成するように最適化された。

(5)信号対雑音比(S/N)は次の式を用いて計算される。

【数1】

$$(S-B)/\sqrt{(SのSD)^2 + (BのSD)^2}$$

(6)HSP90の比活性を決定するために、濃度範囲(0～10 $\mu$ M)の無機ホスフェートが調製され、記載されているようにして620nmでの吸光度が測定される。比活性は、得られた検量線から計算される。

上記の分析で試験された化合物に対して、二つの活性範囲、すなわちA=<50 $\mu$ M; B=>50 $\mu$ Mのうちの一つが割り当てられ、これらの割り当てが上に報告されている。

【0069】

40

増殖阻害分析も、HSP90阻害剤候補の分析に使用された。

スルホロダミンB(SRB)分析による細胞毒性試験：50%阻止濃度(IC<sub>50</sub>)の計算

1日目

1)血球計数器により細胞数を決定する。

2)8チャンネルマルチピペッターを用いて、細胞懸濁液(3600細胞/ウェルまたは2 $\times$ 10<sup>4</sup>細胞/ml)の160 $\mu$ lを96-ウェルマイクロタイタープレートの各ウェルに加える。

3)CO<sub>2</sub>インキュベーター内で37℃で一晩インキュベートする。

【0070】

2日目

4)薬物の貯蔵溶液を調製し、各薬物の連続希釈を媒体中で行い、ウェル中に最終濃度のも

50

のを作成した。

- 5) マルチピペッターを用いて、薬物の40 $\mu$ l(5 $\times$ 最終濃度で)を四重のウェルに加える。
- 6) 対照ウェルは96ウェルプレートのいずれかの端であり、ここに媒体の40 $\mu$ lを加える。
- 7) CO<sub>2</sub>インキュベーター中で4日間(48時間)、プレートをインキュベートする。

【0071】

6日目

- 8) 媒体を流しに捨て、プレートを10%氷冷トリクロロ酢酸(TCA)中にゆっくりと浸す。氷上で約30分間放置する。
- 9) プレートを水道水浴に浸した後、それを捨てることによって、プレートを水道水で3回洗浄する。
- 10) インキュベーター中で乾燥する。
- 11) 1%酢酸中の0.4%SRBの100 $\mu$ lを各ウェルに加える(96ウェルプレートの最後の行(右側)を除いて、これは0%対照、すなわち無薬物、無染色である。一番目の行は、無薬物だが有染色の100%対照となる)。15分間放置する。
- 12) 結合しなかったSRB染色剤を1%酢酸で4回洗浄して洗い流す。
- 13) インキュベーター中でプレートを乾燥する。
- 14) 10mMのTrisベースの100 $\mu$ lを用いてSRBを可溶化し、プレートをプレート振盪器の上に5分間置く。
- 15) プレートリーダーを用いて540nmでの吸光度を決定する。四重のウェルの平均吸光度を計算し、対照の未処理のウェルに対する値のパーセントとして表す。
- 16) 対数薬物濃度に対する吸光度%をプロットし、IC<sub>50</sub>を決定する。

実施例1の化合物は、SRB増殖阻止評価で「B」の範囲のIC50を示した。

【0072】

#### 参考文献

本発明、および本発明が属する技術分野の状況を、より十分に記載し、開示するために、多くの刊行物を上で引用している。これら参考文献の完全な引用を以下に示す。これらの参考文献の各々が、本明細書の中で完全に言及され、ここに組み込まれている。

【0073】

- Argon Y および Simen BB. 1999 "Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties", Semin. Cell Dev. Biol., 10巻, 495-505頁.
- Bijlmakers M-JJE, Marsh M. 2000 "Hsp90 is essential for the synthesis and subsequent membrane association, but not the maintenance, of the Src-kinase p56lck", Molecular Biology of the Cell, 11(5) 巻, 1585-1595頁.
- Bucci M; Roviezzo F; Cicala C; Sessa WC, Cirino G. 2000 "Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo", Brit. J. Pharmacol., 131(1)巻, 13-16頁.
- Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ および Lee W-H. 1996 "A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock", Mol. Cell. Biol., 16巻, 4691-4699頁.
- Chiosis G, Timaul MN, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino L および Rosen N. 2001 "A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of HSP90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cell", Chem. Biol., 8巻, 289-299頁.
- Conroy SE および Latchman DS. 1996 "Do heat shock proteins have a role in breast cancer?", Brit. J. Cancer, 74巻, 717-721頁.
- Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB および Toft DO. 2000 "The HSP90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct

10

20

30

40

50



- functional properties", J. Biol. Chem., 5巻, 3305-3312頁.
- Fuller W, Cuthbert AW. 2000 "Post-translational disruption of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-molecular Chaperone complex with geldanamycin stabilizes delta F508 CFTR in the rabbit reticulocyte lysate", J. Biol. Chem., 275(48)巻, 37462-37468頁.
- Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lloyd D および Weber LA. 1999 "Sequence and regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein", Mol. Cell. Biol., 9巻, 2615-2626頁.
- Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C および Roy-Burman P. 2000 "A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma, Am. J. Pathol., 156巻, 857-864頁. 10
- Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P および Clarke PA. 2001 "Inhibition of signal transduction by the HSP90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis", Cancer Res., 61巻, 4003-4009頁.
- Hur E, Kim H-H, Choi SM, Kim JH, Yim S, Kwon HJ, Choi Y, Kim DK, Lee M-O, Park H. 2002 "Reduction of hypoxia-induced transcription through the repression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol", Mol. Pharmacol., 62(5)巻, 975-982頁. 20
- Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC および Luqmani YA. 1992 "Clinical and biological significance of HSP89 $\alpha$  in human breast cancer", Int. J. Cancer, 50巻, 409-415頁.
- Jolly C および Morimoto RI. 2000 "Role of the heat Shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death", J. Natl. Cancer Inst., 92巻, 1564-1572頁.
- Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M, Yano M, Tsujinata T, Shamma A および Monden M. 1999 "Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus", Cancer, 85巻, 1649-1657頁. 30
- Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA および Harrap KR. 1993 "Preclinical antitumour evaluation of bis-acetalo-amino-dichloro-cyclohexylamine platinum (IV): an orally active platinum drug", Cancer Research, 53巻, 2581-2586頁.
- Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG および Workman P. 1999 "DT-diaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90", J. Natl. Cancer Inst., 91巻, 1940-1949頁.
- Kurebayashi J, Otsuki T, Kurosumi M, Soga S, Akinaga S, Sonoo, H. 2001 "A radicicol derivative, KF58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and vascular endothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breast cancer xenografts", Jap. J. Cancer Res., 92(12)巻, 1342-1351頁. 40
- Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horinouchi S および Bepple T. 1992 "Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype of src-transformed fibroblasts, Biosci., Biotechnol., Biochem., 56巻, 538-539頁.
- Lebeau J, Le Cholony C, Prosperi MT および Goubin G. 1991 "Constitutive overexpression of 89 kDa heat shock protein gene in the HBL100 mammary cell line converted to a tumorigenic phenotype by the EJ/T24 50

- Harvey-ras oncogene", Oncogene, 6巻, 1125-1132頁.
- Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M および Neckers L. 2000a  
"The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the Chaperoned", J. Biol. Chem., 275巻, 37181-37186頁.
- Marcu MG, Schulte TW および Neckers L. 2000b "Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins", J. Natl. Cancer Inst., 92巻, 242-248頁.
- Martin KJ, Kritzman BM, Price LM, Koh B, Kwan CP, Zhang X, MacKay A, O'Hare MJ, Kaelin CM, Muttter GL, Pardee AB および Sager R. 2000  
"Linking gene expression patterns to therapeutic groups in breast cancer", Cancer Res., 60巻, 2232-2238頁. 10
- Neckers L, Schulte TW および Momnaugh E. 1999 "Geldanamycin as a potential anti-cancer agent: its molecular target and biochemical activity", Invest. New Drugs, 17巻, 361-373頁.
- Page J, Heath J, Fulton R, Yalkowsky E, Tabibi E, Tomaszewski J, Smith A および Rodman L. 1997 "Comparison of geldanamycin (NSC-122750) and 17-allylaminogeldanamycin (NSC-330507D) toxicity in rat", Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 38巻, 308頁.
- Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW および Pearl LH. 1998 "ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the HSP 90 molecular chaperone in vivo", EMBO J., 17巻, 4829-4836頁. 20
- Pratt WB. 1997 "The role of the HSP90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signalling via MAP kinase", Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 37巻, 297-326頁.
- Prodromou C および Pearl LH. 2000a "Structure and in vivo function of HSP90", Curr. Opin. Struct. Biol., 10巻, 46-51頁.
- Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW および Pearl LH. 1997 "Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the HSP90 molecular chaperone", Cell, 90巻, 65-75頁. 30
- Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G, O'Brien R, Ladbury JE, Roe SM, Piper PW および Pearl LH. 2000b "The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular 'clamp' via transient dimerization of the N-terminal domains", EMBO J., 19巻, 4383-4392頁.
- Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW および Pearl LH. 1999 "Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by the antitumour antibiotics radicicol and geldanamycin", J. Med. Chem., 42巻, 260-266頁.
- Rutherford SL および Lindquist S. 1998 "HSP90 as a capacitor for morphological evolution", Nature, 396巻, 336-342頁. 40
- Schulte TW, Akinaga S, Murakata T, Agatsuma T, Sugimoto S, Nakano H, Lee YS, Simen BB, Argon Y, Felts S, Toft DO, Neckers LM および Sharma SV. 1999 "Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones", Mol. Endocrinology, 13巻, 1435-1448頁.
- Schulte TW, Akinaga S, Soga S, Sullivan W, Sensgard B, Toft D および Neckers LM. 1998 "Antibiotic radicicol binds to the N-terminal domain of HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", Cell Stress and Chaperones, 3巻, 100-108頁.
- Schulte TW および Neckers LM. 1998 "The benzoquinone ansamycin 17-allyl-amino-17-deemthoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic

- activities with geldanamycin", Cancer Chemother. Pharmacol., 42巻, 273-279頁.
- Smith DF. 2001 "Chaperones in signal transduction", in: Molecular chaperones in the cell (P Lund, ed.; Oxford University Press, Oxford and NY), 165-178頁.
- Smith DF, Whitesell および Katsanis E. 1998 "Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological invention", Pharmacological Reviews, 50巻, 493-513頁.
- Song HY, Dunbar JD, Zhang YX, Guo D および Donner DB. 1995 "Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the type 1 tumour necrosis factor receptor", J. Bio. Chem., 270巻, 3574-3581頁. 10
- Stebbins CE, Russo A, Schneider C, Rosen N, Hartl FU および Pavletich NP. 1997 "Crystal structure of an HSP90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent", Cell, 89巻, 239-250頁.
- Supko JG, Hickman RL, Grever MR および Malspeis L. 1995 "Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumour agent", Cancer Chemother. Pharmacol., 36巻, 305-315頁.
- Tytell M および Hooper PL. 2001 "Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies", Emerging Therapeutic Targets, 5巻, 267-287頁. 20
- Uehara U, Hori M, Takeuchi T および Umezawa H. 1986 "Phenotypic change from transformed to normal induced by benzoquinoid ansamycins accompanies inactivation of p60src in rat kidney cells infected with Rous sarcoma virus", Mol. Cell. Biol., 6巻, 2198-2206頁.
- Waxman, Lloyd H. Inhibiting hepatitis C virus processing and replication. (Merck & Co., Inc., USA). PCT Int. Appl. (2002), WO 0207761
- Whitesell L, Mimnaugh EG, De Costa B, Myers CE および Neckers LM. 1994 "Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation", Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 91巻, 8324-8328頁. 30
- Yorginら 2000 "Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases", J. Immunol., 164(6)巻, 2915-2923頁.
- Young JC, Moarefi I および Hartl FU. 2001 "HSP90: a specialized but essential protein-folding tool", J. Cell. Biol., 154巻, 267-273頁.
- Zhao JF, Nakano H および Sharma S. 1995 "Suppression of RAS and MOS transformation by radicicol", Oncogene, 11巻, 161-173頁.

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/GB 03/05275															
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A61K31/415 C07D231/14 A61K31/496 A61K31/5377 A61K31/4439 A61K31/4155 C07D401/12 C07D403/12																	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																	
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K C07D																	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data																	
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 02 36075 A (SLOAN-KETTERING INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH (US)) 10 May 2002 (2002-05-10) the whole document</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>EP 0 656 354 A (SANOFI SA (FR)) 7 June 1995 (1995-06-07) the whole document</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>P,A</td> <td>WO 03 055860 A (RIBOTARGETS LTD (GB)) 10 July 2003 (2003-07-10) the whole document</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>P,A</td> <td>WO 03 072541 A (SMITHKLINE BEECHAM CO (US)) 4 September 2003 (2003-09-04) the whole document</td> <td>1-19</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	WO 02 36075 A (SLOAN-KETTERING INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH (US)) 10 May 2002 (2002-05-10) the whole document	1-19	A	EP 0 656 354 A (SANOFI SA (FR)) 7 June 1995 (1995-06-07) the whole document	1-19	P,A	WO 03 055860 A (RIBOTARGETS LTD (GB)) 10 July 2003 (2003-07-10) the whole document	1-19	P,A	WO 03 072541 A (SMITHKLINE BEECHAM CO (US)) 4 September 2003 (2003-09-04) the whole document	1-19
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
A	WO 02 36075 A (SLOAN-KETTERING INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH (US)) 10 May 2002 (2002-05-10) the whole document	1-19															
A	EP 0 656 354 A (SANOFI SA (FR)) 7 June 1995 (1995-06-07) the whole document	1-19															
P,A	WO 03 055860 A (RIBOTARGETS LTD (GB)) 10 July 2003 (2003-07-10) the whole document	1-19															
P,A	WO 03 072541 A (SMITHKLINE BEECHAM CO (US)) 4 September 2003 (2003-09-04) the whole document	1-19															
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.																	
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family																	
Date of the actual completion of the international search  17 March 2004		Date of mailing of the international search report  25/03/2004															
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5018 Patentlaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel (+31-70) 340-2040 Tlx 31 651 epo nl Fax (+31-70) 340-3018		Authorized officer  Cortés, J															

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No.  
PCT/GB 03/05275**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: —  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2. ☐ Claims Nos.: —  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.: —  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 8.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/GB 03 05275

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## Continuation of Box I.1

Although claims 14, 18 and 19 are directed to a method of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.

---

## Continuation of Box I.1

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International publication No  
 PCT/GB 03/05275

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0236075	A	10-05-2002	AU 2877102 A CA 2426952 A1 EP 1335920 A2 WO 0236075 A2	15-05-2002 10-05-2002 20-08-2003 10-05-2002
EP 0656354	A	07-06-1995	FR 2713224 A1 FR 2713225 A1 AT 154012 T AU 685518 B2 AU 7899994 A BR 1100984 A3 CA 2136893 A1 CN 1110968 A ,B CZ 9403016 A3 DE 69403614 D1 DE 69403614 T2 DK 656354 T3 EP 0656354 A1 ES 2105575 T3 FI 945690 A GR 3024470 T3 HK 1000599 A1 HU 71498 A2 IL 111719 A JP 3137222 B2 JP 7309841 A JP 2001026541 A NO 944625 A NZ 270025 A PL 306067 A1 RU 2141479 C1 SG 68570 A1 SI 656354 T1 US 5624941 A ZA 9409342 A	09-06-1995 09-06-1995 15-06-1997 22-01-1998 15-06-1995 14-03-2000 21-06-1995 01-11-1995 14-06-1995 10-07-1997 22-01-1998 29-12-1997 07-06-1995 16-10-1997 03-06-1995 28-11-1997 09-04-1998 28-11-1995 28-10-1999 19-02-2001 28-11-1995 30-01-2001 06-06-1995 26-09-1995 12-06-1995 20-11-1999 20-06-2000 31-10-1997 29-04-1997 09-10-1995
WO 03055860	A	10-07-2003	WO 03055860 A1	10-07-2003
WO 03072541	A	04-09-2003	WO 03072541 A2	04-09-2003

## フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 401/12 (2006.01)	C 0 7 D 401/12	
C 0 7 D 405/12 (2006.01)	C 0 7 D 405/12	
C 0 7 D 409/12 (2006.01)	C 0 7 D 409/12	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 1/02 (2006.01)	A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P 15/08 (2006.01)	A 6 1 P 15/08	
	A 6 1 P 43/00	1 0 5

(81) 指定国 AP (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(71) 出願人 504236651

キャンサー リサーチ テクノロジー リミテッド

CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LTD.

イギリス、ロンドン ダブリュシー2エー 3エヌエル、サーディニア ストリート、サーディニア ハウス (番地なし)

(71) 出願人 504236178

ジ インスティテュート オブ キャンサー リサーチ

THE INSTITUTE OF CANCER RESEARCH

イギリス、ロンドン エスダブリュ7 3アールビー、オールド ブロンプトン ロード 123、ロイヤル キャンサー ホスピタル

Royal Cancer Hospital, 123 Old Brompton Road, London SW7 3RP, United Kingdom

(74) 代理人 100065248

弁理士 野河 信太郎

(72) 発明者 ベスウィック, マンディー, クリスティン

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アビントン、グランタ パーク (番地なし)、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

(72) 発明者 ブラウ, ポール, アンドリュー

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アビントン、グランタ パーク (番地なし)、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

(72) 発明者 ドライスデール, マーティン, ジェームス

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アビントン、グランタ パーク (番地なし)、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

(72) 発明者 ディモック, ブライアン, ウィリアム

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アビントン、グランタ パーク (番地なし)



## 、ヴァーナリス（ケンブリッジ）リミテッド

Fターム(参考) 4C063 AA01 BB09 CC22 CC73 CC82 CC92 DD12 DD22 EE01  
4C086 AA01 AA02 AA03 BC36 BC50 BC73 GA02 GA04 GA07 GA08  
GA12 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA33 ZA59 ZA66 ZA81 ZA89  
ZA94 ZB08 ZB11 ZB26 ZB33 ZC35